

# Exploration on the Mechanism of Traditional Chinese Medicine in Regulating Iron Death and Anti Non-alcoholic Fatty Liver Disease Based on Data Mining and Network Pharmacology

Yuhan Jiang<sup>1</sup> Yi Tang<sup>1</sup> Guotai Wang<sup>2\*</sup>

1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, 712046, China

2. Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, 712000, China

## Abstract

**Objective:** To explore the potential mechanism of traditional Chinese medicine regulating ferroptosis in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. **Methods:** NAFLD-related genes were obtained from GenCards and DisGeNET databases, and ferroptosis-related genes were obtained from FerrDb database. The protein phase relationship was obtained by STRING, and the PPI network was constructed by Cytoscape3.10.1 to screen the core Chinese medicine and carry out subsequent data mining, network pharmacology and molecular docking verification. **Results:** A total of 1592 NAFLD genes and 242 ferroptosis genes were screened, and 24 common targets were obtained by intersecting with the effective components of 362 core Chinese medicines. Six core genes were obtained by PPI analysis. KEGG analysis obtained 111 signaling pathways. Molecular docking verification showed that 83.33 % of the binding energy was less than -5.0 kcal / mol, indicating that the core Chinese medicine was stable in docking with the core gene target. **Conclusion:** This study preliminarily analyzed the multi-component, multi-target and multi-pathway characteristics of traditional Chinese medicine in regulating ferroptosis against NAFLD, and provided a theoretical basis for the clinical diagnosis and treatment of NAFLD and its mechanism exploration.

## Keywords

traditional Chinese medicine; NAFLD; iron death; mechanism of action

# 基于数据挖掘及网络药理学探讨中药调控铁死亡抗非酒精性脂肪性肝病的作用机制

蒋雨涵<sup>1</sup> 唐怡<sup>1</sup> 王国泰<sup>2\*</sup>

1. 陕西中医药大学, 中国·陕西 咸阳 712046

2. 陕西中医药大学附属医院, 中国·陕西 咸阳 712000

## 摘要

**目的:** 探讨中药调控铁死亡治疗非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 的潜在机制。**方法:** 通过GenCards和DisGeNET数据库获取NAFLD相关基因, 在FerrDb数据库获取铁死亡相关基因; 使用STRING获得蛋白相作关系, 并通过 Cytoscape3.10.1构建PPI网络, 筛选核心中药并进行后续数据挖掘、网络药理学及分子对接验证。**结果:** 经过筛选得到1592个NAFLD基因、242个铁死亡基因, 两者与362个核心中药的有效成分取交集, 获得24个共同靶点; PPI分析得到6个核心基因; KEGG分析得到111条信号通路; 分子对接验证显示83.33%的结合能<-5.0kcal/mol, 表明核心中药与核心基因靶点对接稳定。**结论:** 本研究初步分析了中药调控铁死亡抗NAFLD的多成分、多靶点、多通路的作用特点, 为NAFLD临床诊疗及其机制探索提供了理论依据。

## 关键词

中药; NAFLD; 铁死亡; 作用机制

## 1 引言

非酒精性脂肪性肝病 (Non-alcoholic fatty liver disease,

**【作者简介】** 蒋雨涵, 女, 硕士, 从事肝胆外科的基础与临床研究。

**【通讯作者】** 王国泰, 男, 博士, 副主任医师, 从事肝胆外科临床与基础研究。

NAFLD) 是排除长期大量饮酒等因素所引起的一种代谢应激性肝脏损伤<sup>[1]</sup>。NAFLD还与肥胖和代谢综合征密切相关, 是最普遍的慢性肝脏疾病, 已成为世界公共卫生问题<sup>[2]</sup>。早期NAFLD通常没有明显症状, 常难以被发现, 给临床诊疗带来了巨大挑战, 目前尚无特效药物治疗NAFLD, 改变不健康的生活方式被认为是干预NAFLD的措施之一<sup>[3]</sup>; 中药作为一种传统的治疗方法, 近年来, 受到越来越多的关注; 中医药以辨证论治、病证结合为指导原则在NAFLD的治疗

上取得了明显的临床疗效, 具有较大的开发价值<sup>[4]</sup>。铁死亡是一种新发现的程序性细胞死亡方式, 其主要表现是细胞内铁离子依赖性脂质过氧化物的过度积累<sup>[5]</sup>。近年来, 大量研究表明铁死亡参与 NAFLD 的发生发展, 抑制铁死亡将在 NAFLD 的发生发展中发挥重要的作用, 即可能成为治疗 NAFLD 的新靶点<sup>[6]</sup>。

本研究结合数据挖掘、网络药理学等方式, 从核心中药、活性成分、作用靶点以及信号传导通路对中药调控铁死亡治疗非酒精性脂肪性肝病的潜在作用机制进行系统研究, 以期临床中药治疗 NAFLD 及其发病机制研究提供理论基础。

## 2 资料与方法

### 2.1 NAFLD 与铁死亡相关基因筛选

于 2023 年 10 月 29 日从 FerrDb (<http://www.zhounan.org/ferrdb/legacy/index.html>)<sup>[7]</sup> 数据库中下载铁死亡相关基因, 其中包括: 促进铁死亡因子 (driver)、抑制因子 (suppressor) 及标志因子 (marker), 将所获数据进行合并, 去除重复项, 获得与铁死亡发生相关的基因。从 GenCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)<sup>[8]</sup>、DisGeNET 数据库 (<https://www.disgenet.org/>)、当前版本的 DisGeNET (v7.0)<sup>[9]</sup> 包含 1134942 个基因-疾病关联 (GDAs), 21672 个基因和 30170 种疾病, 分别在两个数据库中以 “Non-alcoholic Fatty Liver Disease” 为检索词, 获得与 NAFLD 有关的疾病基因。将上述相关靶点导入 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>)<sup>[10]</sup> 进行标准化及映射, 将没有被映射到的基因、非人类基因去除, 利用在线绘制韦恩图网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)<sup>[11]</sup> 将所获得的相关靶点经标准化映射后导入, 最终得到 NAFLD 与铁死亡发生相关的基因, 即 NAFLD 铁死亡基因。

### 2.2 NAFLD 铁死亡关键基因筛选

将 NAFLD 铁死亡基因导入 STRING 数据库 (v 12.0) (<https://cn.string-db.org/>)<sup>[12]</sup> 进行蛋白与蛋白相互作用 (Protein-Protein Interaction Networks, PPI) 分析, 筛选得分 > 0.4 的基因, 去除孤立节点, 导入 Cytoscape 3.10.1 软件<sup>[13]</sup>, 计算 Degree 值, 根据 Degree 值进行可视化, 颜色由浅色逐渐变为深色, Degree 越大, 说明颜色越深, 该基因功能越多, 由此选择 Degree 值 > 60 的排名前 6 的基因, 即为 NAFLD 铁死亡基因中的关键基因。

### 2.3 针对 NAFLD 铁死亡具有潜在治疗作用的中药

将上述关键基因输入 Coremine Medical (<https://coremine.com/medical/#search>) 数据库, 以 “ $P < 0.05$ ” 为标准预测对 NAFLD 铁死亡具有潜在治疗作用的药物<sup>[14]</sup>, 进行整理数据及频次统计, 得到排名前 3 的中药。

### 2.4 网络药理学与分子对接

#### 2.4.1 药物有效成分筛选及作用靶点预测

通过 TCMSP (Traditional Chinese Medicine Systems Pharm-

acology Database and Analysis Platform, TCMSP) (<https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>) 数据库<sup>[15]</sup> 筛选 “1.3 项” 下得到的频次排名前 3 的中药化学成分及其作用靶点, 运用 UniProt 数据库对获得的靶点蛋白进行基因名标准化。利用 VLOOKUP 函数将作用靶点与药物活性成分进行精确匹配, 利用 Cytoscape3.10.1 软件, 构建药物-活性成分-关键靶点网络。计算 Degree 值, 筛选 Degree 值排名前 5 的活性成分作为关键成分。

#### 2.4.2 调节铁死亡作用治疗 NAFLD 关键靶点筛选

将上述得到的 NAFLD、铁死亡基因与关键中药有效成分去重后得到的靶点取交集, 获得 24 个共同靶点, 利用在线绘制韦恩图网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 绘图。

#### 2.4.3 关键靶点 PPI 网络

将关键中药与 NAFLD 铁死亡疾病相交的关键基因靶点导入 STRING 在线平台, 最低要求交互分数设置为 0.4, 将得到的数据导入 Cytoscape3.10.1 软件, 绘制药物-肝纤维化关键靶点的 PPI 图, 设置节点大小及颜色, 根据 Degree 值来设定节点的颜色深浅, Degree 值越大对应的颜色越深, 说明基因靶点在 PPI 网络中的位置越重要。

#### 2.4.4 KEGG 通路分析

将关键中药与 NAFLD 铁死亡疾病相交的关键基因靶点上传至 DAVID 生物信息学数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>)<sup>[16]</sup> 基因组百科全书 KEGG (KEGG Pathway) 通路富集分析, 设置条件为 “ $P < 0.05$ ”, 筛选出具有显著性的富集结果, 将排名前 30 的通路导入微生信平台绘制 KEGG 富集气泡图。

#### 2.4.5 药物活性成分与关键基因靶点分子对接

选取核心靶点相对应的药物活性成分, 从 PubChem 数据库<sup>[17]</sup> 中下载获得其 SDF 结构, 利用 Openbabel 2.4.1 软件转化为 mol2 格式结构; 在 RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 中搜索经 Uniprot 数据库中得到的核心基因对应的蛋白名称, 以 “Homo Sapiens”、带有配体且 “REFINEMENT RESOLUTION” < 3.0 的标准下载其 PDB 格式文件, 导入 PyMOL 2.2.0 中, 删除核心基因蛋白质的水分子和小分子配体, 后将其导入 AutoDockTools1.5.6 (<http://autodock.scripps.edu/resources/tools>) 构建 “Grid Box”, 保存为 PDBQT 格式文件备用。运行 Autodock Vina (1.1.2 版本) 进行分子对接, 筛选结合能绝对值最高的为最优结构。应用 PyMOL 进行可视化处理。

## 3 结果

### 3.1 NAFLD 与铁死亡发生有关的基因

在 FerrDb 数据库中共得到 242 个铁死亡相关基因, 将 GenCards 数据库与 DisGeNET (v7.0) 筛选后得到的基因汇总并删除重复项, 得到非酒精性脂肪性肝病相关基因 1592

个,利用在线绘制韦恩图网站将相关靶点经标准化映射后导入,最终得到NAFLD与铁死亡发生相关的基因114个,见图1。

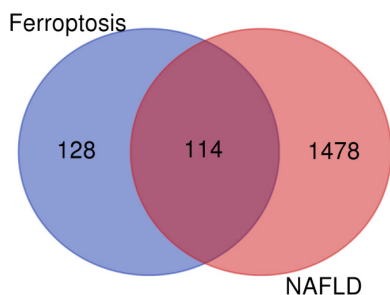


图1 NAFLD中与铁死亡发生相关的基因veen图

### 3.2 NAFLD 铁死亡关键基因分析

将114个NAFLD铁死亡基因导入STRING数据库进行蛋白与蛋白相互作用(PPI)分析,利用Cytoscape 3.10.1软件进行可视化,选择Degree值>60且排名前6的基因,即为NAFLD铁死亡基因中的关键基因。分别为:肿瘤蛋白P53(TP53, Degree 79)、白细胞介素6(IL6, Degree 71)、低氧诱导因子-1A(HIF1A, Degree 71)、原癌基因(JUN, Degree 67)、信号转导和转录激活因子3(STAT3, Degree 66)、白蛋白(ALB, Degree 61),见图2。

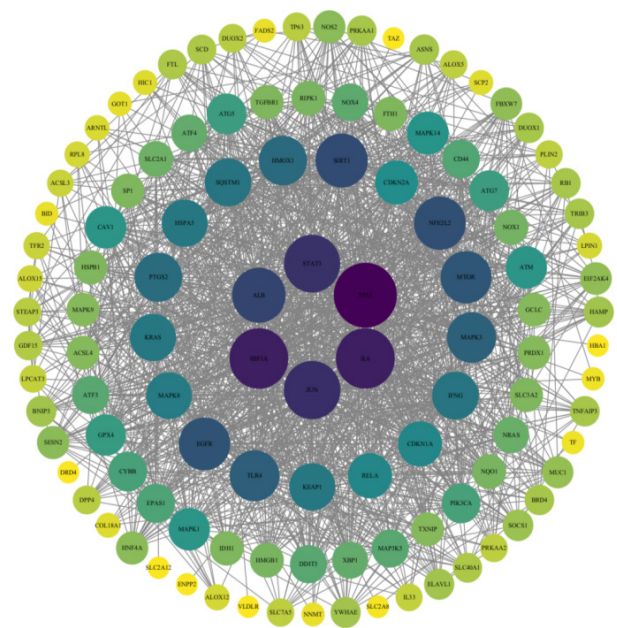


图2 NAFLD与铁死亡发生相关的基因

### 3.3 针对NAFLD铁死亡具有潜在治疗作用的中药

将上述关键基因输入Coremine Medical数据库,通过整理数据,发现出现次数排名前3的中药分别是丹参(6次)、人参(6次)、黄芪(5次)、三七(4次)、黄芩(4次)。其中,丹参与人参、三七与黄芩出现的次数相同,故一起纳入后续研究。

### 3.4 网络药理学及分子对接

#### 3.4.1 药物有效成分筛选及作用靶点预测

通过TCMSP数据库筛选丹参、人参、黄芪、三七、黄芩5味中药化学成分及其作用靶点,5味中药均按照化合物口服生物利用度(oral bioavailability, OB)≥30%、类药性(drug like, DL)≥0.18及Lipinski三原则<sup>[18]</sup>进行筛选;最终得到275个药物活性成分,得到作用靶点362个,其中人参、黄芩、黄芪、三七共有1个活性成分;人参与黄芩、三七共有4个活性成分,与三七共有6个活性成分,与黄芩共有5个活性成分,与黄芪共有1个活性成分;黄芪与黄芩共有2个活性成分,与三七共有1个活性成分;三七和黄芩共有12个活性成分,将Degree值>4的药物、活性成分、关键靶点导入Cytoscape3.10.1软件,构建药物-活性成分-关键靶点网络。计算Degree值,筛选Degree值排名前6的活性成分作为关键成分,见图3。

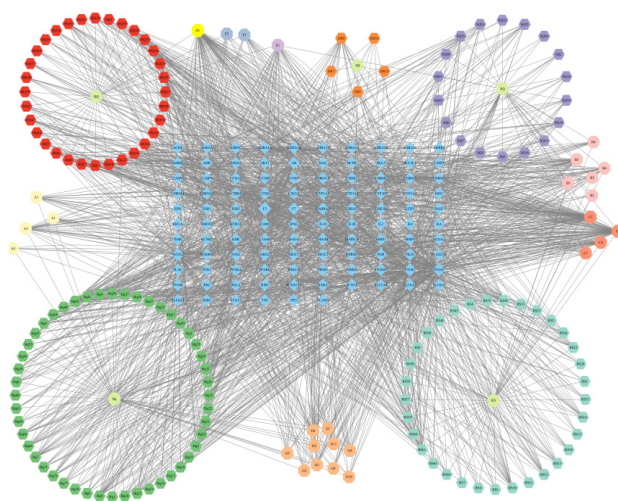


图3 药物-活性成分-关键靶点网络图(Degree值>4)

Degree值排名前5的活性成分共有6种,其中豆甾醇(stigmasterol)与β-谷甾醇(beta-sitosterol)的Degree值相同,故一起纳入;筛选出的关键成分分别为:人参与黄芪共有的山柰酚(kaempferol, Degree值94)、人参、三七和黄芩共有的豆甾醇(stigmasterol, Degree值78)、人参、三七和黄芩共有的β-谷甾醇(beta-sitosterol, Degree值78)、黄芩的芹黄素(apigenin, Degree值60)、黄芪的大豆黄素(daidzein)(Degree值57)及丹参的木犀草素(luteolin, Degree值46);故推测这6种活性成分是丹参、人参、黄芪、三七、黄芩5味中药通过调节铁死亡作用治疗NAFLD的主要活性成分。

#### 3.4.2 中药调节铁死亡作用治疗NAFLD关键靶点

将1592个NAFLD基因、242个铁死亡基因与核心药物的有效成分去重后得到的362个靶点取交集,获得24个共同靶点,利用在线绘制韦恩图网站(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)绘图,见图4。

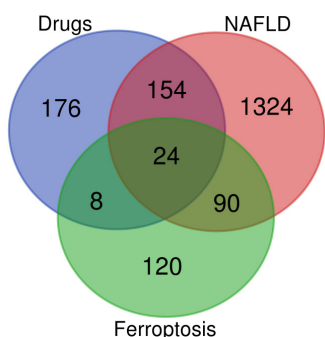


图4 药物靶点与 NAFLD 铁死亡共有靶点 ven 图



图5 中药通过调节铁死亡作用治疗 NAFLD 潜在靶点 PPI 网络

### 3.4.3 关键靶点 PPI 网络

将人参、丹参、三七、黄芪及黄芩与 NAFLD 铁死亡疾病相交的 24 个关键基因靶点导入 STRING 在线平台，将得到的数据以导入 Cytoscape3.10.1 软件，绘制药物—NAFLD 关键靶点的 PPI 图，包含 24 个节点和 169 条边。Degree 值越大对应的颜色越深，见图 5。最终共得到人参、丹参、三七、黄芪及黄芩通过调节铁死亡作用治疗 NAFLD 的核心基因靶点包括肿瘤蛋白 P53 (TP53)、白细胞介素 6 (IL6)、表皮生长因子受体 (EGFR)、低氧诱导因子 -1A (HIF1A)、MAPK8 相关膜蛋白 (MAPK8)、前列腺素 G/H 合酶 2 (PTGS2)。

### 3.4.4 KEGG 通路分析

将人参、丹参、三七、黄芪及黄芩与 NAFLD 铁死亡疾病相交的 24 个关键基因靶点上传至 DAVID 生物信息在线数据库进行 KEGG 通路富集分析，获得 111 条 KEGG 通路富集通路 ( $P < 0.05$ )，按富集基因数目排序后取前 30 条信号通路作图，见图 6。其结果涉及癌症通路 (Pathways in cancer)、HIF-1 信号通路，即低氧诱导因子 -1 信号通路 (HIF-1 signaling pathway)、卡波氏肉瘤相关疱疹病毒感染信号通路 (Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection) 等。

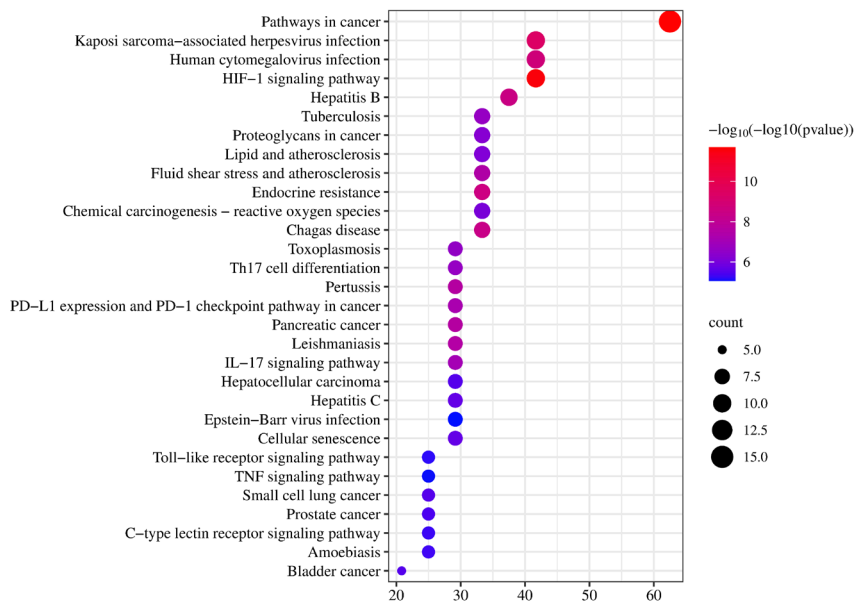


图6 KEGG 信号通路富集图

### 3.4.5 药物活性成分与关键基因靶点分子对接

通过对重要药物活性成分及核心基因靶点的筛选，最终选取了山柰酚 (kaempferol)、豆甾醇 (stigmaterol)、 $\beta$ -谷甾醇 (beta-sitosterol)、芹菜素 (apigenin)、大豆黄素 (daidzein) 及木犀草素 (luteolin) 6 种关键活性成分与 6 个核心基因靶点进行分子对接，其中 EGFR 未匹配到对应结构，故选取 6 种活性成分与其余 5 个核心靶点进行分子对接。结合能小于 -5.0kcal/mol 表明结合活性良好。如果结合能

越小，则表明分子对接越稳定<sup>[19]</sup>。分子对接结果显示，上述 6 种药物活性成分分别与 5 个核心靶点对接的结合能均为负值，分子对接验证显示 83.33% 的结合能  $< -5.0\text{kcal/mol}$ ，即核心药物与核心靶点对接稳定。详见表 1 (结合能均保留至小数点后一位，结合能单位: kcal/mol)。依据结合能数值、核心靶点及关键成分文献报道数量，选取 5 对分子对接后的结果进行可视化展示，见图 7。

表 1 药物活性成分与核心靶点分子对接结合能

	TP53	IL6	HIF1A	MAPK8	PTGS2
山柰酚 (kaempferol)	-5.7	-6.3	-6.8	-6.3	-5.9
豆甾醇 (stigmasterol)	-5.8	-6.9	-7.2	-6.8	-8.4
β-谷甾醇 (beta-sitosterol)	-6.6	-4.6	-3.2	-8.0	-7.8
芹黄素 (apigenin)	-7.0	-2.1	-5.9	-6.8	-9.0
大豆黄素 (daidzein)	-8.0	-2.8	-5.7	-6.4	-7.1
木犀草素 (luteolin)	-7.1	-3.2	-6.6	-6.2	-9.7

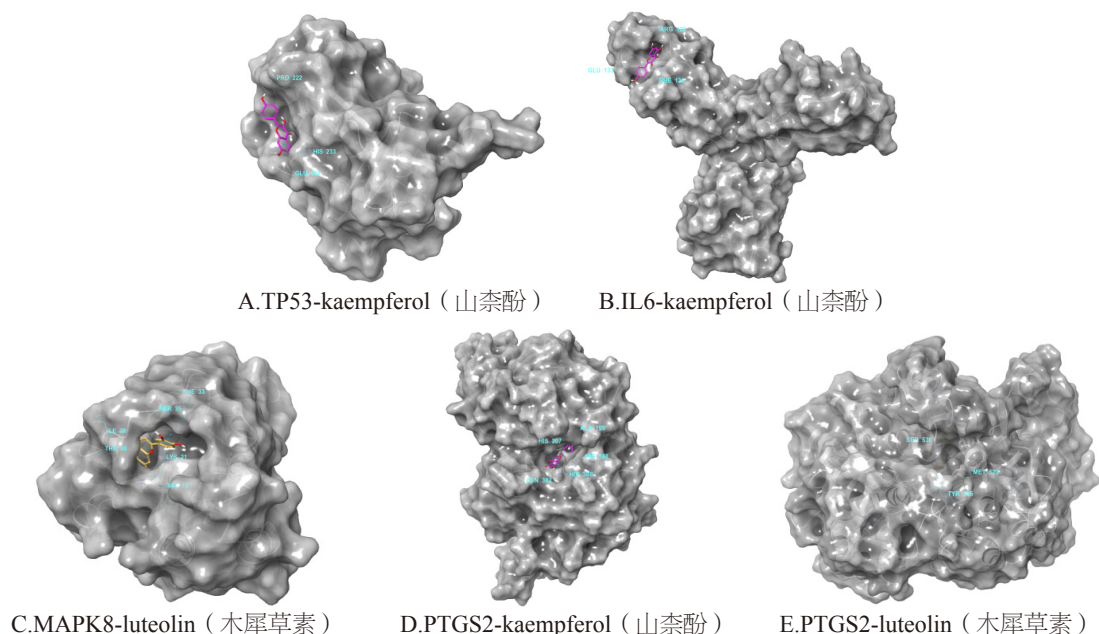


图 7 核心靶点与关键成分分子对接表面模型图

## 4 讨论

NAFLD 是一种常见的发生在肝脏的综合性疾病，涉及肝脏脂质的过多沉积，NAFLD 的患者常伴有肥胖、糖尿病、血压异常、血脂代谢紊乱等<sup>[20]</sup>；自 2012 年将铁死亡描述为一种铁依赖性非凋亡细胞死亡形式以来，铁死亡成为近年来人们研究的热点<sup>[21]</sup>。近年来，研究发现，铁死亡的特征包括脂质过氧化过多，并发现铁死亡相关基因和通路肝病有关<sup>[22]</sup>，即铁死亡参与了肝病的发生发展。一些研究表明，许多药物可抑制铁死亡并保护肝脂肪变性或癌变，尤其是草药或草药提取物，越来越受到关注<sup>[23]</sup>；与降脂的西药相比，中药因其多靶点、多通道作用机制等独特优势，在治疗 NAFLD 方面受到越来越多的关注<sup>[24]</sup>。因此，挖掘对 NAFLD 具有潜在作用的中药有利于调节脂质代谢和抗氧化等机制，从而改善 NAFLD 患者病情。

本研究利用生物信息学的方式，发现丹参、人参、黄芪、三七、黄芩在发挥对 NAFLD 的潜在作用机制中，可能与铁死亡有关；NAFLD 的发生，主要与“痰”“热”“湿”“血瘀”“气滞”“气虚”等有关，其病机主要为痰瘀阻滞于肝<sup>[25]</sup>，丹参、三七功效活血化瘀，人参、黄芪同属补虚药，黄芩擅清热，5味核心中药均符合 NAFLD 的中医治疗适应症。人参、

黄芪的共有成分山柰酚 (kaempferol) 是一种天然的黄酮类化合物，山柰酚是具有自由基清除能力的抗氧化剂，可诱导抗氧化反应介导的转录活性，从而减轻铁死亡，在小鼠海马 HT22 细胞氧化应激诱导的细胞死亡、铁死亡研究中，发现山柰酚能够增加细胞内  $Ca^{2+}$  浓度、抑制细胞内产生 ROS，诱导 ARE 并激活 Nrf2-ARE 通路，发挥对神经的保护作用<sup>[26]</sup>；人参、三七、黄芩共有的豆甾醇具有抗氧化活性，能够降低 DNA 损伤，使得豆甾醇在皮肤癌的治疗中发挥了保护作用<sup>[27]</sup>。Yan<sup>[28]</sup> 等研究发现，豆甾醇 (stigmasterol) 显著降低了喂食高脂肪和高胆固醇 (HFHC) 饮食小鼠肝脏中胆固醇的积聚 ( $P < 0.01$ )，抑制了 NLRP3 炎症小体和白细胞介素 -18 ( $P < 0.05$ ) 的基因表达，从而发挥对小鼠肝脏的保护作用；人参、三七和黄芩共有的 β-谷甾醇 (beta-sitosterol) 是一种甾醇分子，是一种相对温和的抗氧化剂，通过补充 β-谷甾醇可有效降低 1, 2-二甲基胍 (DMH) 诱导的肝脂质过氧化物水平升高<sup>[29]</sup>。黄芩的芹黄素 (apigenin) (5, 7, 4'-三羟基黄酮) 是一种有效的抗氧化化合物，可以治疗与氧化应激相关的慢性疾病<sup>[30]</sup>。黄芪的大豆黄素 (daidzein) 具有抗炎和抗氧化的生物活性，Western blot 分析表明，黄豆苷元通过抑制炎症和氧化应激

来改善 LPS 诱导的肝细胞损伤<sup>[31]</sup>。木犀草素是丹参的活性成分之一,近年来,研究发现,木犀草素能够抑制铁死亡作用,代惠婷<sup>[32]</sup>通过实验研究,发现木犀草素能显著降低急性肝损伤小鼠血清中 AST、ALT 的活性,减轻肝的病理性损伤,修复铁代谢紊乱,抑制铁死亡进程,从而对四氯化碳诱导的小鼠肝损伤具有保护性作用。

人参、丹参、三七、黄芪及黄芩为筛选出的 5 味核心中药,其通过调控铁死亡治疗 NAFLD,涉及癌症通路,癌症通路是一组复杂的信号传导网络,调控着细胞增殖、凋亡、恶性转化等关键过程;其中,肥胖、脂肪沉积等因素能够增加患癌风险<sup>[33]</sup>;肿瘤抑制因子 P53 (TP53) 在许多诱导细胞凋亡的信号通路中起着至关重要的作用,已成为肝病研究的新兴热点,最近的研究表明,TP53 与 NAFLD 的发展有关,TP53 能够通过调节作用从而发挥对 NAFLD 的治疗潜力<sup>[34]</sup>。赵崇如<sup>[35]</sup>通过实验研究发现癌症相关脂肪细胞通过 IL-6/STAT3 信号诱导 M2 型巨噬细胞极化,并上调巨噬细胞中 PD-L1 的表达,进而促进乳腺癌恶性行为的发生发展。本研究发现 5 味核心中药可能存在通过调节癌症通路、IL6/STAT3,进而对 NAFLD 起到治疗作用;深入研究癌症通路及 NAFLD 的关联,可以为防治 NAFLD 及其相关并发症提供新的策略。除此之外,5 味药物通过调控铁死亡治疗 NAFLD 还与 HIF-1 信号通路有关,HIF 是核转录因子、Yes 相关蛋白 (YAP) 是转录辅助调节因子,二者通过调节肝脂质沉积与氧化应激,促进炎症因子释放,与 NAFLD 发展关系密切<sup>[36]</sup>,脂质过氧化是铁死亡发生的原因之一,故 NAFLD 与铁死亡的发生都与脂肪代谢紊乱有关,除此之外,NAFLD 与铁死亡均伴随有氧化应激和炎症反应,这些反应可导致肝脏细胞损伤,最终引起肝功能障碍;本研究发现,5 味核心中药有效成分与关键基因 STAT3 有构成稳定结构的潜能,而 HIF-1 信号通路与 STAT3 等转录因子存在相互作用,说明中药可能通过调控 HIF-1 与 STAT3,从而控制炎症反应、免疫应答等生物学过程;现今,对铁死亡的研究尚在初级阶段,故 HIF-1 和 STAT3 在铁死亡中的相互作用关系仍需要进一步的研究,进一步阐明 HIF1 和 STAT3 的分子机制、信号传导网络以及靶向治疗策略的开发,这对于深入理解细胞生物学的调控机制、NAFLD 的发生发展以及 NAFLD 新治疗策略的研究,将具有重要的理论和实践价值。

## 5 结论

本研究以铁死亡为出发点,利用数据挖掘、网络药理学、分子对接方法揭示中药通过调节铁死亡,从而发挥对 NAFLD 的潜在治疗机制及用药规律。同时发现人参、丹参、三七、黄芪及黄芩为 5 味核心中药,其发挥治疗作用可能与铁死亡有关;通过靶点预测及 KEGG 通路富集分析,得出 5 味核心中药的主要活性成分为山柰酚 (kaempferol)、甾甾醇 (stigmasterol)、 $\beta$ -谷甾醇 (beta-sitosterol)、芹黄素

(apigenin)、大豆黄素 (daidzein) 及木犀草素 (luteolin), TP53、IL6、EGFR、HIF1A、MAPK8、PTGS2 为 6 个核心基因靶点,最后分子对接验证其形成结构稳定性,可为开发出更为有效的药物治疗 NAFLD 提供理论支撑。但本研究只对中药通过调控铁死亡在 NAFLD 治疗中的潜在机制进行了初步探索,还需要进一步的实验和临床研究来验证这些所选分子的活性、安全性及其潜在作用机制,以加深对中药调节铁死亡作用治疗非酒精性脂肪性肝原理和应用前景的理解,以为未来治疗 NAFLD 提供新的思路和方法。

## 参考文献

- [1] 孟令涵,陶婧娜,徐春军,等.角药在治疗非酒精性脂肪性肝病中的应用[J/OL].现代中医临床,1-6[2023-11-30].
- [2] Guo X, Yin X, Liu Z, et al. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Pathogenesis and Natural Products for Prevention and Treatment[J].Mol Sci,2022,23(24):15489.
- [3] 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018年更新版)[J].临床肝胆病杂志,2018,34(5):947-957.
- [4] Wei M, Liu X, Tan Z, et al. Ferroptosis: a new strategy for Chinese herbal medicine treatment of diabetic nephropathy[J]. Front Endocrinol (Lausanne),2023(14):118800.
- [5] 余臣祖,张朝宁,张燕.铁死亡在代谢相关脂肪性肝病中的作用研究进展[J].临床医学研究与实践,2023,8(32):191-194.
- [6] 王超越,黄晓巍,王雨辰,等.中药治疗非酒精性脂肪性肝病研究进展[J].人参研究,2022,34(5):44-47.
- [7] Nan Zhou, Jinku Bao, Ferr. A manually curated resource for regulators and markers of ferroptosis and ferroptosis-disease associations[J].Database,2020(3):21.
- [8] Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses[J].Curr Protoc Bioinformatics,2016(54):30-33.
- [9] Piñero J, Sañu J, Sanz F, et al. The DisGeNET cytoscape app: Exploring and visualizing disease genomics data[J].Comput Struct Biotechnol,2021(19):2960-2967.
- [10] UniProt Consortium. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023[J].Nucleic Acids Res,2023,51(1):523-531.
- [11] Jia A, Xu L, Wang Y. Venn diagrams in bioinformatics[J].Brief Bioinform,2021,22(5):108.
- [12] Szklarczyk D, Kirsch R, Koutrouli M, et al. The STRING database in 2023: protein-protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest[J]. Nucleic Acids Res,2023,51(1):638-646.
- [13] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. Genome Res,2003,13(11):2498-2504.
- [14] Kong Q, Ma Y, Yu J, Chen X. Predicted molecular targets and pathways for germacrone, curdione, and furanodiene in the

- treatment of breast cancer using a bioinformatics approach[J].*Sci Rep*,2017,7(1):15543.
- [15] Ru J, Li P, Wang J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *Journal of cheminformatics*,2014(7).
- [16] Sherman BT, Hao M, Qiu J, et al. DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update)[J]. *Nucleic Acids Res*,2022,50(1):216-221.
- [17] Kim S, Chen J, Cheng T, et al. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces[J]. *Nucleic Acids Res*,2021,49(1):1388-1395.
- [18] 马青云,刘辰,杜海涛,等.基于高通量分子对接虚拟筛选SARS-CoV-2 3CL水解酶中药小分子抑制剂及抗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的中药及其复方预测[J].*中草药*,2020,51(6):1397-1405.
- [19] 袁文强,杨柳婵,陈晨,等.表没食子儿茶素没食子酸酯对结肠炎作用的网络药理学分析及分子对接验证[J].*亚太传统医药*,2023,19(12):157-164.
- [20] Rong L, Zou J, Ran W, et al. Advancements in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*,2023(13):1087260. Published 2023 Jan 16.
- [21] Tang D, Chen X, Kang R, et al. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications[J]. *Cell Res*,2021,31(2):107-125.
- [22] Chen J, Li X, Ge C, et al. The multifaceted role of ferroptosis in liver disease[J].*Cell Death Differ*,2022,29(3):467-480.
- [23] Wu Q, Chen Z, Ding Y, et al. Protective effect of traditional Chinese medicine on non-alcoholic fatty liver disease and liver cancer by targeting ferroptosis[J]. *Front Nutr*,2022(9):1033129.
- [24] Zhou H, Ma C, Wang C, et al. Research progress in use of traditional Chinese medicine monomer for treatment of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Eur J Pharmacol*,2021(898):173976.
- [25] Treatment and Exploration of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Traditional Chinese Medicine[J]. *Journal of Contemporary medical practice*,2022,4(6).
- [26] Takashima M, Ichihara K, Hirata Y. Neuroprotective effects of Brazilian green propolis on oxytosis/ferroptosis in mouse hippocampal HT22 cells[J]. *Food Chem Toxicol*,2019(132):110669.
- [27] Bakrim S, Benkhaira N, Bourais I, et al. Health Benefits and Pharmacological Properties of Stigmasterol[J]. *Antioxidants (Basel)*,2022,11(10):1912.
- [28] Xin Y, Li X, Zhu X, et al. Stigmasterol Protects Against Steatohepatitis Induced by High-Fat and High-Cholesterol Diet in Mice by Enhancing the Alternative Bile Acid Synthesis Pathway[J]. *Nutr*,2023,153(7):1903-1914.
- [29] Baskar A A, Al Numair K S, Gabriel Paulraj M, et al.  $\beta$ -sitosterol prevents lipid peroxidation and improves antioxidant status and histoarchitecture in rats with 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer[J].*Med Food*,2012,15(4):335-343.
- [30] Kashyap P, Shikha D, Thakur M, et al. Functionality of apigenin as a potent antioxidant with emphasis on bioavailability, metabolism, action mechanism and in vitro and in vivo studies: A review[J]. *Food Biochem*,2022,46(4):13950.
- [31] Yu Z, Yang L, Deng S, et al. Daidzein ameliorates LPS-induced hepatocyte injury by inhibiting inflammation and oxidative stress[J]. *Eur J Pharmacol*,2020(885):173399.
- [32] 代惠婷.木犀草素对四氯化碳诱导小鼠急性肝损伤的保护作用及机制研究[D].长春:吉林大学,2023.
- [33] Avgerinos KI, Spyrou N, Mantzoros CS, et al. Obesity and cancer risk: Emerging biological mechanisms and perspectives[J]. *Metabolism*,2019(92):121-135.
- [34] Yan Z, Miao X, Zhang B, et al. p53 as a double-edged sword in the progression of non-alcoholic fatty liver disease[J].*Life Sci*,2018(215):64-72.
- [35] 赵崇如.癌症相关脂肪细胞调控IL-6/STAT3通路促进乳腺癌恶性进展的机制研究[D].武汉:华中科技大学,2022.
- [36] 张华,寇萱萱,邓婧鑫,等.缺氧诱导因子1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )/Yes相关蛋白(YAP)在非酒精性脂肪性肝病中的调控作用[J].*临床肝胆病杂志*,2023,39(9):2191-2197.